

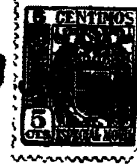
mc/

Caso 8400

289 837

289837

28



P A T E N T E D E I N V E N C I O N

a favor de

MERCK & CO., INC. - de nacionalidad norteamericana - domi-
ciliada en RAHWAY (New Jersey, E.U.) 126 East Lincoln Avenue

por:

" Procedimiento para la obtención de aminoácidos "

-----:oOo:-----

M e m o r i a D e s c r i p t i v a

Este invento se refiere a nuevos compuestos anti-
bióticos y al método para prepararlos, y más concretamen-
te a nuevas penicilinas, sales de éstas, y su procedimien-

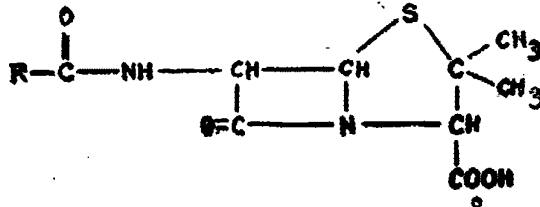
28 JUN

289837



to de preparación.

Las penicilinas de fórmula general



5 donde R designa un radical orgánico, han resultado suma-
mente útiles en el tratamiento de las infecciones, parti-
cularmente de las producidas por bacterias grampositivas.
Por eso, penicilinas tales como bencilpenicilina y feno-
ximetilpenicilina se emplean mucho para tratar diversas
infecciones. Aunque las penicilinas se emplean muy ex-
tensamente, las ya conocidas adolecen de una o más desven-
10 tajas. Por ejemplo, algunas de ellas, como la bencilpeni-
cilina, son inestables en condiciones ácidas, y por ello
no son satisfactorias para su administración oral. Algunas
penicilinas son ineficaces contra las cepas resistentes
de bacterias, y por ello hay que restringir su uso al tra-
15 tamiento de las bacterias sensibles a la acción de la pe-
nicilina. En consecuencia, han continuado las pesquisas
para encontrar otras penicilinas exentas de los inconve-
nientes de las conocidas.

20 Un objeto de este invento es proporcionar penici-
linas estables a los ácidos, y sus sales, que sean efica-
ces contra diversos microorganismos resistentes a la pe-
nicilina. Otro objeto es proporcionar el procedimiento pa-
ra preparar tales penicilinas; y otros objetos más se apre-

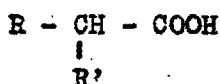
28 JUN



289837

Los ésteres del ácido 6-aminopenicilánico adecuados para ser empleados en el procedimiento de este invento son aquellos que se desdoblan fácilmente por hidrogenación catalítica. Entre ellos pueden mencionarse los siguientes: alílico, bencílico, bencílico sustituido, fenílico, fenílico sustituido, y similares. Como el éster bencílico es el que más cómodamente se prepara, es el preferido para la obtención de las nuevas penicilinas del presente invento.

10 Los ácidos orgánicos α -guanidinsustituídos que se emplean como acilantes para preparar las nuevas penicilinas, tienen la siguiente fórmula:



15 donde R y R' son como antes se ha definido. Al preparar los ácidos carboxílicos guanidinsustituídos empleados como acilantes, el ácido aminocarboxílico apropiado se hace reaccionar con un éter S-alquílico seleccionado de o-alquilisourea o de isotiourea, y de la mezcla reaccionante
20 se recupera el ácido guanidinalcanoico resultante. De este modo, por ejemplo, se prepara el ácido α -guanidinfenilacético por reacción del ácido α -aminofenilacético con o-metilisourea; ácido α -guanidin- β -fenilpropiónico, por reacción del ácido α -amino- β -fenilpropiónico y el éter metílico de isourea; ácido α -guanidinpropiónico, con ácido
25 α -aminopropiónico y S-metilisotiourea; ácido α -guanidin-p-metoxifenilacético, por reacción del ácido α -amino-p-metoxifenilacético con o-metilisourea; ácido α -guanidin- α -furi-lacético, con ácido α -aminofurilacético y el éter metílico

289837



de isourea; ácido α -guanidinciclohexilacético, por reac-
ción del ácido α -aminociclohexilacético con clorhidrato
de o-metilisourea; y ácido α -guanidinciclohexilacético;
con ácido α -aminociclohexilacético por reacción con clor-
hidrato de o-metilisourea en amoniaco acuoso.

5

Cuando se origina un nuevo centro de asimetría por
introducción de un grupo guanidino o N-alquilguanidino, es
posible desde luego que la nueva guanidinpenicilina exista
en forma de uno o varios isómeros ópticos, y de origen a
un nuevo par de compuestos diastereoisómeros. Cuando el
ácido guanidincarboxílico empleado como acilante se deri-
va de un aminoácido con actividad óptica resultante en par-
te de la presencia de un grupo amino ligado al carbono asi-
-métrico, el ácido guanidincarboxílico producido conservará
la actividad óptica del compuesto aminoácido primario. Así,
cuando este aminoácido primario es una mezcla racémica óp-
ticamente inactiva de la forma dotada de actividad óptica,
el ácido guanidincompuesto resultante será asimismo una
mezcla racémica ópticamente inactiva. Las formas óptica-
mente activas o las racémicas del ácido guanidincarboxíli-
cos pueden hacerse reaccionar con derivados del ácido 6-
aminopenicilánico para producir los compuestos de α -guali-
dinpenicilina. Se ha comprobado que las D- α -guanidinpe-
nicilinas son más activas que las formas L, y por eso cons-
tituyen variantes preferidas del presente invento.

10

15

20

25

La reacción del éster 6-aminopenicilánico y del áci-
do α -guanidinorgánico se efectúa de modo conveniente por
contacto de los reactivos en presencia de una carbodiimida
tal como 1,3-diciclohexil-carbodiimida o 1,3-diisopropil-
carbodiimida, en un disolvente adecuado, a temperatura or-

30



5 ordinaria. Después de terminada la reacción, la urea obtenida de la dicarbodiimida se separa de la mezcla de reacción, y el éster penicilíco buscado se recupera de la solución resultante de acuerdo con métodos bien conocidos en esta especialidad.

10 El éster de la nueva penicilina así obtenido se convierte fácilmente en el ácido libre por hidrogenación catalítica. Esta se efectúa con preferencia empleando como catalizador un metal noble, por ejemplo, paladio, platino o rodio, mejor en un substrato inerte, como carbono, carbonato de bario, harina fósil o similares. Terminada la hidrogenación, el ácido penicilínico libre se recupera de la mezcla reaccionante por procedimientos conocidos.

15 Ejemplos de α -guanidinpenicilinas que pueden mencionarse son α -guanidinbencilpenicilina, α -guanidin- β -fenetilpenicilina, α -guanidinmetilpenicilina, α -guanidin-1-naftilmetilpenicilina, α -guanidin-p-metoxibencilpenicilina, α -guanidinfurilmetilpenicilina, α -guanidinciclohexilmetilpenicilina, y α -guanidinheptilpenicilina. Estas
20 penicilinas pueden obtenerse en forma de sus sales internas, o hacerse reaccionar con ácidos para obtener las correspondientes sales. Tanto las internas como las no tóxicas pueden mezclarse con vehículos farmacéuticos adecuados, no tóxicos, líquidos o sólidos, para su administración a personas y animales. Estos fármacos pueden contener otros agentes
25 terapéuticos activos, y ser administrados por vía oral o por vía parentérica.

30 Las nuevas penicilinas y sus sales no tóxicas son agentes antibacterianos valiosos, útiles para esterilizar utensilios y materiales. Son asimismo suplementos nutritivos



vos útiles en piensos de animales, y agentes terapéuticos de provecho para aves domésticas y otros animales, incluso personas, especialmente en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias grampositivas y gramnegativas.

5 Los siguientes ejemplos se ofrecen como ilustración de los métodos de preparación de las nuevas penicilinas y de sus sales no tóxicas.

EJEMPLO 12.

10 Se añade clorhidrato de éster bencílico de D- α -guanidinbencilpenicilina a una suspensión previamente reducida de 0,1 g. de paladio al 10% en carbón vegetal en 10 ml. de metanol al 50%, y se agita la mezcla bajo nitrógeno 45 minutos, a temperatura ambiente y presión atmosférica. Se separa el catalizador por filtración, y el filtrado se evapora a presión reducida. Al evaporarse el metanol, cristaliza en la solución ácida acuosa como sal interna la D- α -guanidinbencilpenicilina. La precipitación se completa añadiendo 1 ml. de solución 0,5n de bicarbonato sódico acuoso. El precipitado se separa por filtración, y se lava con agua y con metanol; p.fus., 220°C. (desc.). El producto inhibe al Staphylococcus aureus a una concentración de 0,97 mcg./mililitro.

15

20

25 El clorhidrato de éster bencílico de D- α -guanidinbencilpenicilina se prepara haciendo reaccionar 6-aminopenicililato de bencilo con clorhidrato de ácido D- α -guanidin fenilacético, en presencia de dicitclohexilcarbodiimida, como sigue:

30 A una solución de 0,3 g. de 6-aminopenicililato de bencilo y 0,25 g. de dicitclohexilcarbodiimida en 3 ml. de cloruro de metileno se añade a gotas, agitando, una solución



289337

de 0,23 g. de clorhidrato de ácido D- α -guanidinfenilacético en 1 ml. de dimetilformamida, durante cinco minutos. Después de 30 minutos de reposo a temperatura ambiente, se enfría la solución, y se separa por filtración el precipitado de dicitclohexilurea. Se diluye el filtrado con 50 ml. de éter, y el líquido que sobrenada se decanta de la goma precipitada. Se añaden otros 25 ml. de éter a la goma, que se roza luego con una espátula hasta que se solidifique. El clorhidrato sólido del éster bencílico de D- α -guanidinbencilpenicilina se separa por filtración y se lava con éter (peso, 0,5 g.; p.fus., 75-135°C., con descomposición gradual); luego se utiliza al reducir, sin más purificación.

El 6-aminopenicilanato de bencilo se prepara como sigue: Se añade ácido 6-aminopenicilánico finamente molido (2 g.) a una solución de 1 g. de fenildiazometano en 10 ml. de cloruro de metileno y 3 ml. de metanol. La suspensión se agita durante tres horas, y entretanto se desprende nitrógeno y se decolora la solución, inicialmente roja. Se diluye la mezcla con 30 ml. de éter, y se separa por filtración el ácido 6-aminopenicilánico (0,5 g.) que no ha reaccionado. Se añade a gotas al filtrado una solución anhidra de cloruro de hidrógeno en éter, hasta que una nueva adición no dé ya precipitado. El clorhidrato de 6-aminopenicilanato de bencilo depositado (2,2 g.) se separa por filtración y se lava con éter. Se agita el precipitado con 30 ml. de éter y un ligero exceso de solución acuosa de bicarbonato sódico, y la capa etérea se separa y deseca sobre sulfato magnésico anhidro. La evaporación del éter deja un residuo oleoso de 6-aminopenicilanato de

289837



bencilo. Para purificar este residuo, se disuelve en metanol, y se agrega una solución de ácido oxálico hidratado en metanol. El oxalato precipitado de 6-aminopenicilano de bencilo se separa por filtración y se lava con éter; p.fus. 133-134°C. (desc.). La sal oxálica se trata, a semejanza de la clorhídrica, con éter y solución de bicarbonato sódico, y se obtienen cristales blancos de 6-aminopenicilano de bencilo, p.fus. 82-83°C.

El clorhidrato de ácido D- α -guanidinfenilacético se prepara como sigue: Se disuelven 10 g. de ácido D- α -aminofenilacético en 200 ml. de agua y 60 ml. de solución acuosa de amoníaco al 28%. Se añaden 20 g. de clorhidrato de éter de o-metilisourea, y se deja reposar 24 horas la solución, a temperatura ambiente. El precipitado de ácido D- α -guanidinfenilacético se separa por filtración y se lava con agua; rendimiento, 2,5 g. de un producto que funde a 255°C., se solidifica y vuelve a fundirse a unos 26°C. con descomposición.

El clorhidrato se preparó disolviendo el ácido en ácido clorhídrico diluido y evaporando el disolvente en vacío; p.fus., 157-159°C. con descomposición.

EJEMPLO 2º

Se hidrogena clorhidrato de éster bencílico de α -guanidin- β -feniletilpenicilina, en presencia de un catalizador de paladio sobre carbón vegetal, como en el ejemplo 1º. Después de filtrar el catalizador, el filtrado se neutraliza con un equivalente de solución de bicarbonato sódico, y se evapora hasta sequedad a presión reducida. El residuo contiene α -guanidin- β -fenetilpenicilina.



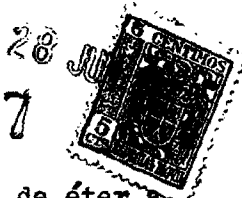
5 El clorhidrato de éster bencílico de α -guanidin- β -feniletilpenicilina se prepara añadiendo 0,25 g. de clorhidrato de ácido DL- α -guanidin- β -fenilpropiónico a una solución de 0,3 g. de 6-aminopenicilanato de bencilo y 0,23 g. de dicitclohexicarbodiimida en 2 ml. de cloruro de metileno y dimetilformamida al 1:1. Después de 30 minutos a temperatura ambiente, la dicitclohexilurea precipitada se separa por filtración, y se precipita la α -guanidin- β -fenetilpenicilina añadiendo éter al filtrado.

10 El ácido β -fenil- α -guanidinpropiónico se prepara por reacción del ácido DL- α -amino- β -fenilpropiónico y *o*-metilisourea, como se describe en la especialidad.

EJEMPLO 32

15 Una solución de 0,886 g. de clorhidrato de éster bencílico de guanidinmetilpenicilina en 20 ml. de metanol acuoso de 90% se hidrogena durante dos horas en presencia de 0,4 g. de paladio al 10% sobre carbón como catalizador. Después de separar éste por filtración, el filtrado se neutraliza con solución de bicarbonato sódico, y luego se enfría y liofiliza. El residuo sólido, que contiene guanidinmetilpenicilina, inhibe al Staphilococcus aureus a una concentración de 1,9 mcg./ml.

20 El clorhidrato de éster bencílico de guanidinmetilpenicilina se prepara como sigue: Se añade una solución de 0,464 g. de clorhidrato de ácido guanidinacético en 3 ml. de dimetilformamida a otra de 0,92 g. de 6-aminopenicilanato de bencilo y 0,7 g. de dicitclohexilcarbodiimida en 2 ml. de dimetilformamida. Después de veinte minutos de reposo, la mezcla se enfría, y el precipitado de dicitclohe-



xilurea se separa por filtración. La adición de éter a filtrado, como en el ejemplo 1º, da 1,2 g. de clorhidrato de éster bencílico de guanidinmetilpenicilina.

EJEMPLO 4º.

5 Una solución de clorhidrato de éster bencílico de α -guanidinnaftilmetilpenicilina (0,6 g.) en 20 ml. de metanol acuoso de 90% se agita con 0,2 g. de catalizador de paladio al 10% sobre carbón vegetal, a temperatura ambiente y presión atmosférica, hasta que se absorba la cantidad
10 teórica de hidrógeno. Luego se separa por filtración el catalizador, y se neutraliza el filtrado con un equivalente de solución de bicarbonato sódico. La solución se concentra hasta un volumen de 5 ml. mientras el producto precipita. La α -guanidinnaftilmetilpenicilina se separa por filtración, se lava con agua y seguidamente con éter, y se seca
15 al aire.

 La sal clorhídrica del éster bencílico de α -guanidinnaftilmetilpenicilina se prepara como sigue: Se añade lentamente una solución de clorhidrato de ácido DL- α -guanidinnaftilacético (0,56 g.) en 2 ml. de dimetilformamida a otra
20 de 5-aminopenicilinato de bencilo (0,6 g.) y dicitclohexilcarbodiimida (0,5 g.) en 5 ml. de cloruro de metileno. La mezcla se deja 45 minutos en reposo a temperatura ambiente, se enfria 15 minutos en hielo, y se filtra. Se añaden al
25 filtrado 100 ml. de éter etílico, y el clorhidrato de éster bencílico de α -guanidinnaftilmetilpenicilina precipitado se separa por filtración y se lava con éter.

 El ácido DL- α -guanidinnaftilacético se prepara por reacción de ácido DL- α -aminonaftilacético con clorhidrato

289837

28



de o-metilisourea en solución acuosa de amoniaco.

EJEMPLO 5º.

5 La sal clorhídrica de éster bencílico de α -guanidin-p-metoxibencilpenicilina se hidrogena siguiendo la técnica descrita en el ejemplo 1º, para producir α -guanidin-p-metoxibencilpenicilina.

10 El clorhidrato de éster bencílico de α -guanidin-p-metoxibencilpenicilina precitada se obtiene por reacción del clorhidrato de ácido α -guanidin-p-metoxifenilacético con éster bencílico del ácido 6-aminopenicilánico y dicitclohexildiimida, de acuerdo con el método del ejemplo 1º. El ácido α -guanidin-p-metoxifenilacético intermedio requerido para esta reacción se prepara haciendo reaccionar ácido α -amino-p-metoxifenilacético con clorhidrato de éster de
15 o-metilisourea en amoniaco acuoso.

EJEMPLO 6º.

20 La sal clorhídrica de éster bencílico de α -guanidinfurilmetilpenicilina se hidrogena en solución de metanol acuoso, en presencia de catalizador de paladio sobre carbón vegetal, a temperatura ambiente y presión atmosférica. Terminada la absorción de hidrógeno, se separa el catalizador por filtración, y se ajusta el filtrado a un pH 7 con solución de bicarbonato sódico. La solución evaporada a presión reducida, deja la α -guanidinfurilmetilpenicilina sólida.
25

El clorhidrato de éster bencílico de α -guanidinfurilmetilpenicilina se obtiene por reacción de clorhidrato de ácido α -guanidinfurilacético con 6-aminopenicilanato de



bencilo. La sal clorhídrica de ácido α -guanidinfurilacético se obtiene mediante reacción de ácido α -aminofurilacético con clorhidrato de o-metilisourea en amoniaco acuoso.

5

EJEMPLO 7º.

Una solución de clorhidrato de éster bencilico de α -guanidinciclohexilmetilpenicilina (0,5 g.) en 15 ml. de metanol acuoso al 50% se hidrogena en presencia de 0,2 g. de paladio al 20% sobre carbón vegetal, a temperatura ambiente y presión atmosférica, durante 45 minutos. Se separa el catalizador por filtración, y se añade al filtrado 0,8 g. de acetato sódico. La solución resultante se evapora a presión reducida, y da un precipitado de α -guanidinciclohexilmetilpenicilina.

15

El clorhidrato de éster bencilico de α -guanidinciclohexilmetilpenicilina empleado en este ejemplo se prepara por reacción de ácido α -guanidin-ciclohexilacético con éster bencilico de ácido 6-aminopenicilánico, según se ha descrito en el ejemplo 1. El ácido α -guanidinciclohexilacético se obtiene tratando una solución de ácido α -amino-ciclohexilacético en amoniaco acuoso con clorhidrato de o-metilisourea.

20

EJEMPLO 8º.

Se obtiene α -guanidin-heptilpenicilina por hidrogenación del éster bencilico de clorhidrato de α -guanidin-heptilpenicilina en metanol acuoso con catalizador de paladio sobre carbón vegetal, a temperatura ambiente y bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de separar por filtra-

25



ción el catalizador, se neutraliza el filtrado con un
 equivalente de solución de bicarbonato sódico, y después
 se evapora hasta sequedad, a presión reducida, para obte-
 5 ner la α -guanidin-heptilpenicilina. El éster bencílico
 intermedio se obtiene por reacción de clorhidrato del áci-
 do guanidinoctanoico con 6-aminopenicilanoato de bencilo
 y dicitclohexildiimida, siguiendo el procedimiento del
 ejemplo 1º. El clorhidrato de ácido α -guanidinoctanoico
 se obtiene de ácido α -aminoctanoico, por el método del
 10 ejemplo precedente.

La actividad antibacteriana in vitro de la D- α -
 guanidinbencilpenicilina se comparó con la de bencilpeni-
 cilina (penicilina G) en tubos de dilución de 24 horas,
 contra estafilococos, estreptococos y neumococos. La con-
 15 centración inhibitoria mínima (CIM) de estos dos antibió-
 ticos contra los microorganismos patógenos se expone en
 la tabla siguiente;

CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA
(mcg./ml.)

Microorganismo	D- α -guanidin- bencilpenicilina	Bencilpenicilina
<u>Staph. aureus</u> Smith	0,97	0,12
<u>Staph. aureus</u> 2957	3,9	1000
<u>Staph. aureus</u> 3147	1,9	125
<u>Staph. aureus</u> 3051	3,9	1000
<u>Staph. aureus</u> 3036	3,9	1000
<u>Staph. aureus</u> 3106	3,9	1000
<u>Staph. aureus</u> 3089	3,9	1000
<u>D. pneumoniae</u> I-37	0,06	0,03
<u>Strept. pyro- genes</u> G-203	0,03	0,03



====: N O T A :====

Se reivindica como objeto de esta patente:

5 1.- Procedimiento para la obtención de aminoácidos, que comprende poner en íntimo contacto un miembro del grupo integrado por ácidos guanidinorgánicos simples y α -substituidos con un éster de ácido 6-aminopenicilánico, en presencia de una carbodiimida, e hidrogenar con un catalizador el producto de esta reacción, para obtener el correspondiente ácido 6-(acilamino)-penicilánico; en el que dicho grupo acilo contiene un miembro del grupo constituido por guanidina simple o guanidina substituída en el átomo de carbono α .

10 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el éster del ácido 6-aminopenicilánico es el bencílico.

15 3.- Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el éster del ácido 6-aminopenicilánico es el bencílico, y el ácido α -guanidinorgánico es el α -guanidinfenilacético.

20 4.- Procedimiento para la obtención de aminoácidos.

Esta memoria consta de quince páginas escritas por una sola cara.

BARCELONA, 28 JUN. 1963